

VERWERTUNG VON XYLIT UND XYLOSE IM STOFFWECHSEL

von

JOACHIM STECHERT

1967

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Professor Dr. Dr. K. Lang

VERWERTUNG VON XYLIT UND XYLOSE IM STOFFWECHSEL

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

JOACHIM STECHERT
aus Schladen/Harz

MAINZ 1968

Ans dem Physiologisch-Chemischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Ihre Ehren Professor Dr. Dr. K. Lang

VERWERTUNG VON KALIT UND KALIT IM KLOPPWECHSEL

Dekan: Professor Dr. med. Diethelm
Referent: Professor Dr. med. K. -H. Bässler
Korreferent: Professor Dr. Dr. K. Lang
Tag der mündlichen Prüfung: 16. Dezember 1967

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz



IOACHIM BÜCHER
am Schlußpunkt

Gesamtherstellung: Ditters Bürodienst Mainz

GLIEDERUNG

	Seite
I. Einleitung	1
II. Fragestellung	4
III. Eigene Untersuchungen	5
A. Pentosenausscheidung im Harn	5
1. Methodik	5
2. Normale Pentosenausscheidung im Harn	7
3. Pentosenausscheidung nach Xylose-Belastung ..	9
4. Pentosenausscheidung nach Xylit-Belastung ...	11
5. Diskussion der Befunde 2-4	12
B. Transketolase-Hemmung durch D-Xylose	13
1. Methodik	13
2. Ergebnisse	15
3. Diskussion	17
C. Verwertung von Xylit bei experimenteller Leber- cirrhose	18
1. Methodik	18
2. Ergebnisse	18
IV. Zusammenfassung	22
V. Literaturverzeichnis	23

I. EINLEITUNG

BEDEUTUNG UND AUFGABEN DER PENTOSEN IM STOFFWECHSEL

1. Vorkommen und Funktion

Die Pentosen kommen im allgemeinen nicht in freier Form vor, sie sind aber in Polysacchariden, den Pentosanen, im Pflanzenreich sehr weit verbreitet. Für den menschlichen Organismus sind Ribose und Desoxyribose von großer Wichtigkeit als Bausteine physiologisch wichtiger Substanzen, wie z.B. RNS, DNS, Nucleosid-mono-di- und triphosphaten, ferner einigen Coenzymen: Diphospho-pyridin-nucleotid (DPN), Triphospho-pyridin-nucleotid (TPN), Coenzym A, Flavinmononucleotid (FMN) und Flavin-adenin-dinucleotid (FAD). L-Arabinose ist gelegentlich nach Genuß sehr pentosereicher Früchte im Harn beobachtet worden. In neuerer Zeit ist die Bedeutung der Phosphorsäureester der beiden Ketopentosen D-Ribulose und D-Xylulose bei der Oxydation der Kohlenhydrate und der Photosynthese erkannt worden.

2. Biosynthese der Pentosen

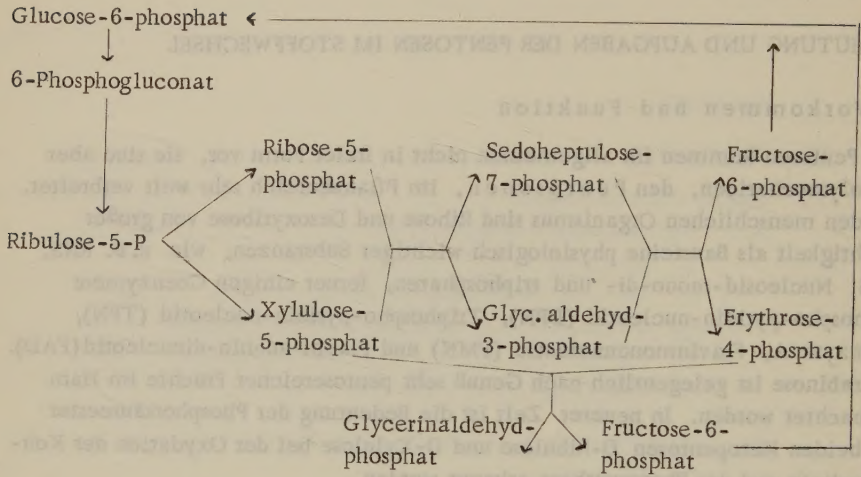
Die Biosynthese der Pentosen aus Hexosen ermöglichen zwei Stoffwechselcyclen:

- a) Der Pentosephosphat-Cyclus
- b) Der Glucuronsäure-Cyclus

a) Der Pentosephosphat-Cyclus (PPh) erfüllt zwei biologisch bedeutsame Aufgaben im Organismus: einmal stellt er durch die Reduktion von TPN-Wasserstoff für Biosynthesen zur Verfügung, zum anderen werden Pentosen gewonnen, so vor allem die Ribose. Die Isolierung und Identifizierung des Ribose-5-phosphates gelang dabei HORECKER und Mitarb. (1, 3, 2) nach Inkubation von Hefe- bzw. Leber-6-Phospho-gluconat-DH mit 6-Phosphogluconat und TPN^+ .

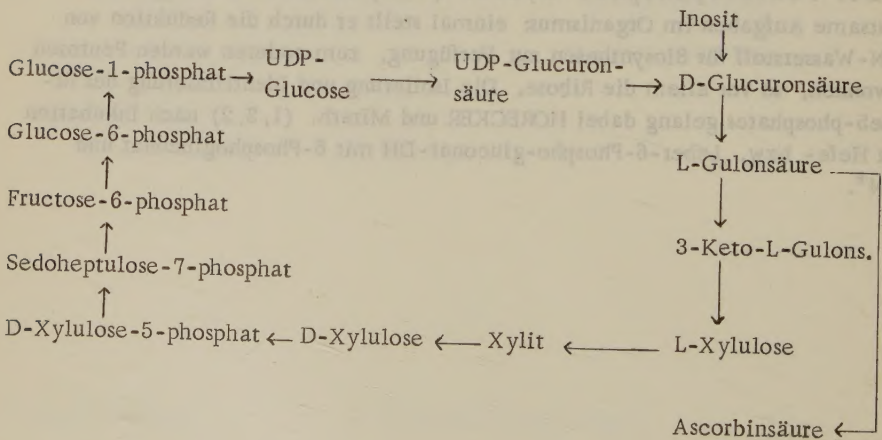
Schema:

Pentosephosphat - Cyclus



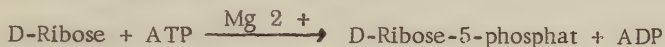
b) Der Glucuronsäure - Cyclus, dessen Existenz schon 1956 (4) vermutet wurde, verläuft im Gegensatz zum Pentosephosphat-Cyclus zum großen Teil über nicht-phosphorylierte Substanzen. Bindeglied beider Stoffwechselcyclen ist das D-Xylulose-phosphat.

Glucuronsäure - Cyclus



3. Exogene Pentosen

D-Ribose wird für den Stoffwechsel im Säugetier durch ihre Phosphorylierung mittels D-Ribokinase (5) verwertbar:



Von intravenös infundierter Ribose werden beim Menschen je nach Dosis 16 - 48 Prozent innerhalb von 6 Stunden zu CO_2 oxydiert, beim Diabetiker werden in 5 Stunden 18 Prozent als Glucose eliminiert (6, 7). Eine Zufuhr von D-Ribose-1- ^{14}C bei gesunden Versuchspersonen (8, 6) zeigte eine ^{14}C -Verteilung in der Glucose des Leberglykogens. Alle diese Befunde demonstrieren eine rasche Verwertung der Ribose im Stoffwechsel über Glucose. Auf den Glucosegehalt im Blut hat eine Ribose-Infusion einen senkenden Effekt, bedingt durch eine Hemmung der Phosphoglucomutase durch R-5-P mit konsekutiver Hemmung des Glycogen-Abbaues in der Leber (6).

D-Xylose: Es ist bekannt, daß ein Teil der Xylose im Stoffwechsel verwertet wird, über den Weg der Einschleusung in den Stoffwechsel hat man jedoch noch keine klaren Vorstellungen. In Linsenextrakten wurde folgender Weg nachgewiesen (9):



Eine weitere Möglichkeit wäre die Isomerisierung zu D-Xylulose in der Leber vor oder nach der Phosphorylierung. Der experimentelle Beweis für diese Reaktion steht jedoch noch aus. Ein hoher Prozentsatz der nicht verwerteten Xylose wird offenbar unverändert im Harn ausgeschieden. In der Medizin hat D-Xylose eine gewisse Bedeutung erlangt zur Prüfung der Resorption (z. B. Xylose-Belastung und Prüfung der Ausscheidung im Harn bei Malabsorptionssyndrom).

Xylit: Dieses normale Stoffwechselzwischenprodukt im Glucuronsäure-Xylulose-Cyclus (s. o.) hat Interesse als Zuckerersatz bei Diabetikern und als Kohlenhydrat bei der parenteralen Ernährung erlangt (10).

Die übrigen Pentosen, die exogen insbesondere durch pflanzliche Nahrung aufgenommen werden, vor allem Arabinose und D-Xylose, sind im Stoffwechsel weitgehend inert. Als Vorstufe für Nucleinsäuren kommen sie also kaum in Betracht. HIATT (11) fand auch keinen Einbau von D- oder L-Arabinose in Leberglykogen, SEGAL und FOLEY (7) ebenfalls keine Oxydation von

L-Arabinose zu CO_2 beim Menschen, aber 19 bzw. 14 Prozent CO_2 -Bildung aus D-Arabinose bzw. D-Lyxose, deren Hauptmenge aber nach intravenöser Infusion unverändert im Harn ausgeschieden wurde. Über die Wege ist nichts bekannt. Durch die tierischen Kinasen werden diese Pentosen nicht phosphoryliert.

II. FRAGESTELLUNG FÜR DIE VORLIEGENDE ARBEIT

Wie aus der Einleitung hervorgeht, liegen Untersuchungen über die Stellung von Xylit und Xylose im Kohlenhydratstoffwechsel vor. Es gibt Arbeiten über Teilabschnitte ihres Stoffwechsels wie z. B. über die Frage der Glykogenbildung oder der antiketogenen Wirkung. Man findet ferner Berichte über einzelne Enzyme, die an den beiden Stoffen angreifen und über ihr Vorkommen in einzelnen Organen. Aus all diesen Daten kann man sich jedoch kein Bild machen über die Größe des Gesamtumsatzes im Organismus. Ein erster Versuch, diese Lücke zu schließen, soll mit dieser Arbeit unternommen werden.

Der erste Fragenkomplex befaßt sich mit der Durchsatzkapazität für Xylit und Xylose bei Belastung des Organismus mit diesen Stoffen. Kommt es nach Belastung nun zur Ausscheidung von Intermediärprodukten als Zeichen für Engpässe im Stoffwechsel? Das setzt eine Klärung voraus, in welchem Umfang normalerweise, also ohne Belastung, Zwischenprodukte des Pentosenstoffwechsels ausgeschieden werden.

Nach den bisher vorliegenden Befunden muß man annehmen, daß Xylit und Xylose eine Strecke weit auf dem gleichen Weg umgesetzt werden, nämlich über den Pentosephosphatcyclus. Die sich daraus ergebende zweite Frage, die in dieser Arbeit untersucht werden soll, lautet also: Erfolgt die Umsetzung von Xylit und Xylose unabhängig voneinander oder beeinflussen sie sich gegenseitig im Sinne der Konkurrenz?

Die dritte Frage befaßt sich mit der Umsatzkapazität für Xylit bei Leberschäden. Man weiß, daß der Hauptanteil des Xylitstoffwechsels in der Leber verläuft. So wäre es möglich, daß bei Leberschäden der Xylitumsatz beeinträchtigt wird und z. B. die Bestimmung der Xylitausscheidung nach Belastung eine zusätzliche Möglichkeit für die Leberfunktionsdiagnostik bieten könnte. Diese Frage wird an Ratten untersucht, bei denen eine Lebercirrhose experimentell durch Thioacetamid hervorgerufen wurde.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. AUSSCHIEDUNG VON PENTOSEN IM HARN

1. Methodik

Die Ausscheidung von Pentosen im Harn von Menschen (vorwiegend Patienten aus der Hautklinik der Universität Mainz) wurde qualitativ mit Hilfe papierchromatographischer Trennung und Identifizierung untersucht und quantitativ mit Hilfe bekannter Farbreaktionen auf Pentosen direkt im Harn und nach säulenchromatographischer Auftrennung der Zucker bestimmt.

Schwierigkeiten ergeben sich daraus, daß Pentosen unter normalen Bedingungen nur in sehr kleinen Mengen ausgeschieden werden und daß keine der bisher bekannten chemischen Methoden spezifisch für einzelne Zucker ist.

Vor der Papierchromatographie muß der Harn eingeeengt werden, da sonst die Zuckerkonzentrationen zum Nachweis auf dem Papier nicht ausreichen.

Beim Einengen ebenso wie bei den chemischen Nachweisreaktionen stören die Salze im Harn. Deshalb wurde der Harn in allen Fällen entsalzt: 25 ml Harn werden mit dem dreifachen Volumen eiskalten Acetons versetzt und mindestens 30 min in Eiswasser stehengelassen, ausgefallene Salze, Proteine u. a. werden abzentrifugiert. Aus dem Überstehenden wird Aceton im Vakuum bei 40° abdestilliert. Der wäßrige Rest wird zum Entionisieren zuerst über eine Kationenaustausch-Säule mit Amberlite IR 120 (H⁺-Form) geschickt, dabei werden zugleich die gesamten Harnfarbstoffe zurückgehalten. Das Eluat wird über eine zweite Säule mit Anionenaustauscher Duolite A-4 (OH⁻-Form) geschickt. Eluat samt Waschflüssigkeit werden auf 100 ml aufgefüllt (1 ml entspricht dann 0,25 ml ursprünglichem Harn). Ein Teil dieser Lösung wird für die chemische Bestimmung verwendet. 80 ml davon wurden im Vakuum eingeeengt und dann ad 2,0 ml mit dest. Wasser gelöst. Diese Lösung wird für die Papierchromatographie verwendet.

Chemische Bestimmung der Pentosen:

Zur Bestimmung der Aldopentosen wurde die Farbreaktion mit Bromanilinacetat verwendet (12). Ketopentosen wurden mit der Cystein-Carbazol-Reaktion bestimmt (13). Daneben wurde zur Pentosenbestimmung die Orcin-Reaktion angewandt (14). Dabei läßt sich auf folgende Weise zwischen Aldopentose und Ketopentose differenzieren: In einer entionisierten Harnprobe werden mit Orcin die Gesamtpentosen bestimmt. In einer zweiten Probe werden erst die Aldopen-

tosen durch Oxydation mit Brom in Aldonsäuren übergeführt, dann die Ketopentosen mit Orcin bestimmt. Die Differenz zwischen der ersten und der zweiten Probe ergibt die Menge der Aldopentosen.

Bromoxydation nach (15) modifiziert: 1 ml Harn wird mit 1 ml 1,2%iger wässriger Bromlösung und 80 mg Bariumcarbonat versetzt und unter gelegentlichem Schütteln bei 25° gehalten. Sollte dabei infolge zu hohen Aldosegehaltes Entfärbung eingetreten sein, so wird noch einmal Bromlösung nachgegeben, bis nach 20 min noch eine deutliche Bromfärbung zu erkennen ist. Dann wird der Bromüberschuß mit einem Stickstoffstrom ausgetrieben. Vor optischen Messungen hat es sich als zweckmäßig erwiesen, den letzten Rest durch eine Spur $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ zu beseitigen. Dann wird abzentrifugiert und in dem klaren Überstehenden können die Pentosen bestimmt werden. Xylulose und Ribulose kann man dabei am Verhältnis der Absorptionsmaxima unterscheiden (16). Als Standard für die colorimetrische Bestimmung diente D-Xylose, für Ketopentosen reines Ribulose-o-nitrophenylhydrazon.

Papierchromatographische Bestimmung der Pentosen:

0,02 - 0,05 ml des entionisierten, eingeeengten Harns (siehe oben) werden auf Whatman-Papier Nr. 1 aufgetragen. Es wird 20 Std. lang als Durchlaufchromatogramm mit einem Gemisch von Butanol : Aceton : Wasser = 4 : 5 : 1 absteigend entwickelt. Unter zahlreichen untersuchten Lösungsmittelgemischen war dies das einzige, das eine Trennung von Ribulose und Xylulose ermöglichte.

Zur Anfärbung der Zuckerflecke wurden verschiedene Reaktionen (bei Parallelchromatogrammen) angewandt:

Orcin (17), Anilinphthalat (18), Naphthoresorcin (19), Phloroglucin (20) und Indolessigsäure (21). Die Identifizierung der Zucker wurde mit Hilfe mitgelaufer Testzucker durchgeführt, zusammen mit der spezifischen Anfärbung durch verschiedene Reagentien, z. B. mit

Orcinreagens: Ketoheptosen blaugrün, Kethexosen gelb, Aldosen reagieren nur in sehr hoher Konzentration.

Phloroglucin: Heptulosen grün, Ketopentosen dunkelgrün, Aldopentosen purpur, Kethexosen orange-braun.

Anilinhydrogenphthalat: Aldopentosen rot, Aldoheptosen braun, Fructose gelb, nach Besprühen mit Orcin-Reagens kann man unter der UV-Lampe zwischen Xylulose und Ribulose unterscheiden: Nur Ribulose zeigt eine gelbe Fluoreszenz. Im normalen Tageslicht gibt Xylulose einen grau-grünen, Ribulose einen gelb-grünen Farbton. Bei nachfolgendem Übersprühen mit Anilinphthalat ohne gleichzeitiges Erhitzen verfärbt sich der Xylulose-Fleck violett mit stark grauem Unterton, der Ribulose-Fleck rein rosa.

Säulenchromatographische Trennung der Pentosen:

Zur quantitativen Bestimmung der einzelnen Pentosefraktionen und zur Überprüfung der bei der direkten colorimetrischen Bestimmung erhaltenen Werte wurden in einigen Fällen die Zucker als Borat-Komplexe chromatographiert nach dem Verfahren von KHYM und ZILL (21). Dazu wurde ein aliquoter Teil des entionisierten Harns bei 40° im Vakuum eingengt, in 10 bis 20 ml 0,01 m Na-tetraborat aufgenommen und auf eine Säule (Durchmesser 1 cm, Höhe 20 cm) mit Dowex-1 in der Borat-Form gegeben. Nach Nachwaschen mit 25 ml 0,01 m Tetraborat wurde zuerst mit 0,018 m Tetraborat und später mit höheren Konzentrationen, wie in den entsprechenden Abbildungen beschrieben, eluiert.

Die Fraktionen von 10 ml wurden mit Cystein-Carbazol auf Ketosen und mit p-Bromanilacetat auf Aldosen geprüft. Die Zucker enthaltenden Fraktionen wurden durch Passage über Amberlite IR (H⁺-Form) und anschließendes Abdestillieren der Borsäure als Methanolester von Borat befreit (22) und dann im Vakuum zum Trocknen eingengt. Der Rückstand wurde in einem kleinen Volumen Wasser aufgenommen und der enthaltene Zucker durch Papierchromatographie mit Vergleichssubstanzen sowie das Spektrum nach Orcin-Reaktion identifiziert (16).

Belastung: Stoffwechselgesunde Patienten der Hautklinik erhielten 20 g Xylose per os oder 20 g Xylit (als 40%ige Lösung). Anschließend wurde der Harn von 5 Stunden gesammelt. Als Normalharn diente der 12-Stunden-Harn vor dem Versuch. Die Belastungen führte Herr Privatdozent Dr. Holzmann durch.

2. Normale Pentose-Ausscheidung im Harn

Es gibt eine ganze Reihe von qualitativen papierchromatographischen Untersuchungen über Ausscheidung von Zuckern im Harn (23-29). Über die Ausscheidung von Ketopentosen konnten jedoch nur an zwei Stellen Angaben gefunden werden, was mit der äußerst komplizierten und zeitraubenden Bestimmung und Identifizierung der Ketopentosen zusammenhängen dürfte, zumal die entsprechenden Testsubstanzen im Handel nicht erhältlich sind und selbst präpariert werden müssen. FUTTERMAN und ROE fanden in 880 ml gemischtem Harn zweier Versuchspersonen 3,9 mg L-Xylulose und 1,1 mg Ribulose. TOUSTER und Mitarb. (31) konnten im Tagesharn von drei gesunden Versuchspersonen nicht mit Sicherheit Xylulose nachweisen (weniger als 1 mg pro Tag), bei einer 4. Versuchsperson enthielt der Tagesharn 60 mg L-Xylulose.

Bei der Bestimmung mit der Cystein-Carbazol-Reaktion und mit der Orcin-Reaktion nach Bromoxydation der Aldosen fanden sich im entionisierten 12 Std. -Harn von 9 stoffwechselgesunden Vpn. 12-42 mg Ketopentosen (Mittelwert 21,8 mg) (s. Tabelle 1).

Tabelle 1: Ausscheidung von Ketopentosen im Harn in 12 Std.

Vpn. -Nr.	Harnvol. (ml)	Ketopentosen (mg)
1	159	20,2
2	255	23,5
3	375	42,0
4	295	27,7
5	243	19,5
6	315	15,1
7	335	20,0
8	330	12,8
9	405	15,9

Bei der papierchromatographischen Untersuchung normaler Harnproben fanden sich bei 3 von 33 Proben deutlich Xylulose und Ribulose, bei 13 Proben ein so schwacher Ketopentosefleck, daß zwischen Xylulose und Ribulose nicht zu unterscheiden war, und bei 17 Proben konnten Ketopentosen mit Sicherheit nicht nachgewiesen werden. Die Schätzung der Menge an Ketopentosen aus Fleckengröße und Farbstärke auf dem Papierchromatogramm im Vergleich mit Testmengen führte zu Werten, die etwa ein Zehntel von dem betragen, was mit dem Cystein-Carbazol-Test ermittelt wurde.

Zur Klärung dieser Diskrepanz wurde in einigen Fällen die vollständige säulenchromatographische Trennung der Zucker in Harnproben durchgeführt. Ein Beispiel für ein derartiges Chromatogramm zeigt Abb. 1.

Daten, die auf solche Weise ermittelt wurden, finden sich in Tabelle 2. Die Werte liegen in der gleichen Größenordnung wie die von FUTTERMAN und ROE (30) und zeigen, daß die mit der direkten colorimetrischen Bestimmung ermittelten Werte zu hoch liegen. Verluste bei der umständlichen Prozedur der Säulenchromatographie dürften keine Rolle spielen, denn eingesetzte Testsubstanzen fanden sich zu 85-90 Prozent wieder.

Auch das Säulenchromatogramm selbst ist mit Vorsicht zu bewerten. Die erhaltenen Daten sind nur gültig, wenn die Zucker der einzelnen Fraktionen auch papierchromatographisch als solche identifiziert werden können. In einigen Fällen treten, wie schon TOUSTER u. Mitarb. (31) beschrieben haben, zu Beginn der Elution größere Mengen an Cystein-Carbazol-positivem Material auf, das nicht als Zucker identifiziert werden kann. Vermutlich sind diese Substan-

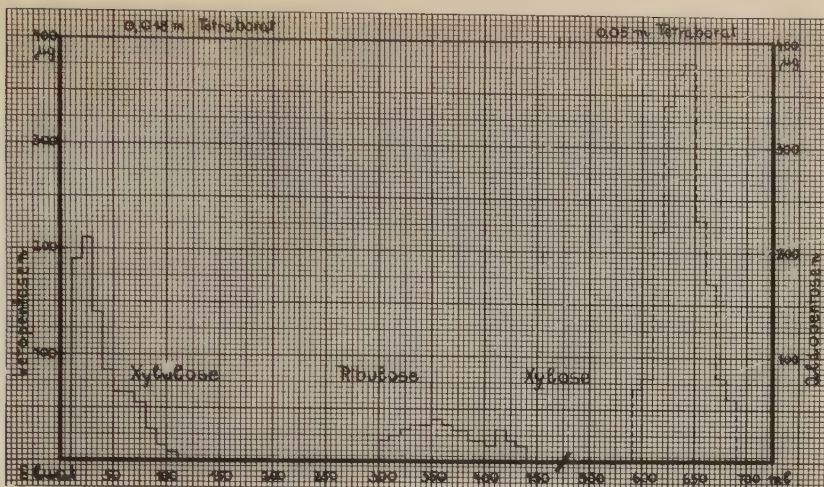


Abb. 1. Ionenaustausch-Chromatogramm der Pentosen in normalem Harn. Technische Daten siehe unter Methodik.

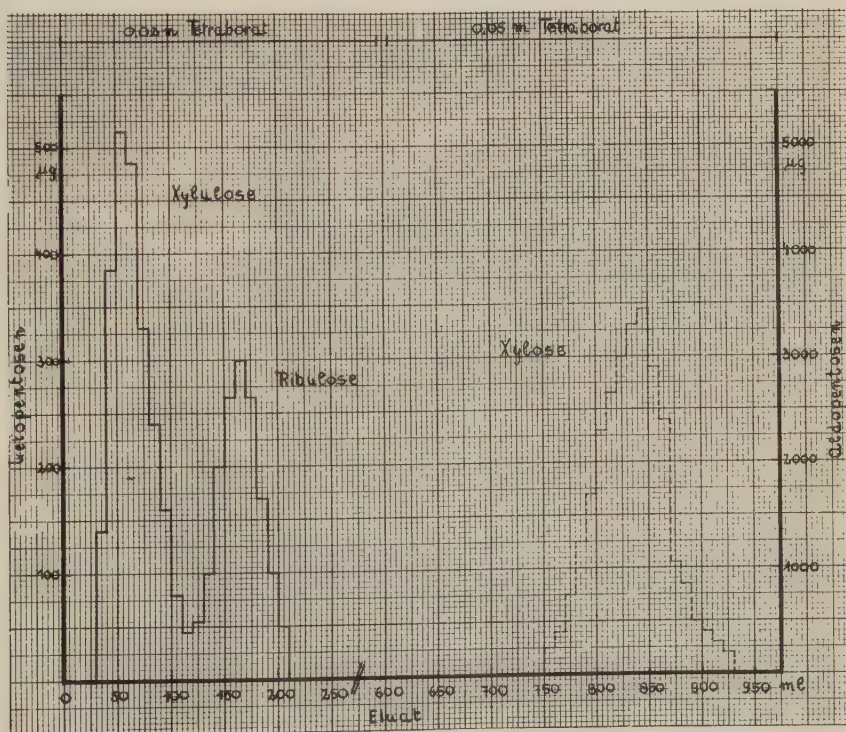


Abb. 2 Ionenaustausch-Chromatogramm der Pentosen im Harn nach oraler Belastung mit 20 g D-Xylose. Technische Daten siehe unter Methodik.

zen die Ursache für die zu hohen Ketopentosewerte, die man im unbehandelten oder entionisierten Harn mit der Cystein-Carbazol-Reaktion oder der Orcin-Reaktion findet. Die direkte Anwendung dieser beiden Reaktionen zur Bestimmung von Ketopentosen ist somit als quantitative Methode ungeeignet.

Tabelle 2: Normale Ausscheidung von Ketopentosen im Harn in 12 Stunden

Versuchs- person	Harnvol. (ml)	Gesamtketopentosen (mg)
P.	940	1,34
B.	360	1,20
W.	660	7,00
Br.	630	3,00

Sie kann allerdings zur Beobachtung einer deutlichen Zunahme der Ketopentose-Ausscheidung bei einer Vp. nach einer bestimmten Behandlung dienen, wie der nächste Abschnitt zeigt.

3. Pentosen-Ausscheidung nach Belastung mit D-Xylose

Es ist bekannt, daß nach Zufuhr von D-Xylose ein erheblicher Prozentsatz (bis zu 50%) unverändert im Harn wieder ausgeschieden wird (32, 33, 34). Tabelle 3 zeigt die in meinen Versuchen nach oraler Belastung ausgeschiedenen Mengen an unveränderter Xylose und daneben die Mengen an Gesamt-Keto-Pentosen, die mit der Cystein-Carbazol-Reaktion ermittelt worden sind.

Tabelle 3: Ausscheidung von Xylose und Ketopentosen im Harn
in 5 Std. nach oraler Belastung mit 20 g D-Xylose

Versuchs- person Nr.	Harn- volumen ml	D-Xylose g	Gesamt- Ketopent. mg	Ketopentos. n. Säulenchr. mg
1	290	2,43	366	258 Xylulose 102 Ribulose
2	330	5,20	140	100 Xylulose 26 Ribulose
3	160	4,50	187	
4	165	4,60	264	
5	300	5,60	300	
6	250	5,50	310	
7	315	2,00	330	
8	360	2,10	228	
9	125	1,90	156	
10	230	3,10	220	
11	250	4,97	360	
12	315	4,85	350	
13	550	5,94	360	
14	190	3,10	170	
15	435	2,70	120	
16	180	2,00	107	
17	265	2,60	34	
18	230	2,24	56	

Daß bei dieser erhöhten Ausscheidung von Ketopentosen die Cystein-Carbazol-Werte mit den säulenchromatographischen Werten praktisch übereinstimmen, zeigt die papierchromatographische und säulenchromatographische Analyse. Bei den Vpn. Nr. 1 und Nr. 2 sind diese Daten in Tabelle 3 angegeben. Das Säulenchromatogramm von Vp. Nr. 1 zeigt Abb. 2.

Der Vergleich von Tabelle 2 und 3 zeigt deutlich, daß die Ausscheidung von Ketopentosen im Harn nach oraler Belastung mit 20 g Xylose etwa 100-fach ansteigt.

Bei der Papierchromatographie der Harnproben sieht man diesen Anstieg der Ketopentoseausscheidung sehr deutlich. Während bei normalen Harnproben in einer ganzen Anzahl von Fällen Ketopentosen nach mit Sicherheit nachgewiesen werden konnten, findet man nach Xylose-Belastung auf dem Papierchromatogramm von 21 Vpn. in 19 Fällen deutlich Xylulose und Ribulose, in den zwei restlichen Fällen hatten sich die beiden Ketopentosen nicht getrennt.

Aus Tabelle 3 geht außerdem die bekannte schlechte Verwertbarkeit von D-Xylose hervor: Die in 5 Stunden ausgeschiedene Menge liegt zwischen 10 und 30% (Mittelwert ca. 18%).

Die enzymatische Analyse der xylulosehaltigen Fraktionen der Säulenchromatogramme mit DPN-Xylitdehydrogenase (35) bewies, daß es sich vorwiegend um D-Xylulose handelt. Während also bei der geringfügigen Xylulose-Ausscheidung im Normalharn L-Xylulose vorliegt (30, 31), wird nach Xylose-Belastung D-Xylulose ausgeschieden, daneben in geringerem Umfang auch Ribulose.

4. Pentosen-Ausscheidung nach Belastung mit Xylit

Es ist bekannt, daß Xylit im Stoffwechsel wesentlich besser verwertet wird als Xylose. Während bei oraler Belastung mit 20 g Xylose bis zu 30% der Dosis im Harn wiedergefunden (s. oben), werden nach Belastung mit 20 g Xylit selbst bei intravenöser Zufuhr nur 8 - 10% ausgeschieden (36, 37).

Da nach oraler Xylitbelastung nie ein Anstieg der Pentosen im Harn entdeckt werden konnte, wurde mit 20 g Xylit intravenös belastet. Unter diesen Bedingungen wird die langsame Resorption umgangen und der Umsatz erfolgt wesentlich rascher. Wenn also auf Grund eines Engpasses im Stoffwechsel Zwischenprodukte ausgeschieden werden sollten, so müßte es bei intravenöser Zufuhr sehr viel deutlicher zu sehen sein als bei oraler Zufuhr.

Unter 9 Vpn., die durch intravenöse Injektion von 20 g Xylit (50 ml 40%ige Lösung) belastet wurden, zeigten nur 5 bei der papierchromatographischen Untersuchung des 5-Std.-Harns eine geringfügige Erhöhung der Ausscheidung von Xylulose und Ribulose. Bei den übrigen 4 Vpn. konnten Ketopentosen nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Der Anstieg der Ketopentose-Ausscheidung betrug im höchsten Fall das 2- bis 3-fache der Norm, es besteht also kein sicherer Unterschied zur normalen Ketopentose-Ausscheidung. Man findet also einen drastischen Unterschied im Verhalten der Ketopentosen-Ausscheidungen nach Belastung mit Xylose oder mit Xylit: Im Fall der Xylose-Belastung ein etwa 100-facher Anstieg, im Fall der (intravenösen) Xylit-Belastung ein nicht gesicherter Anstieg um maximal das 2- bis 3-fache der Norm.

5. Diskussion der Befunde 1 - 4

Die hier vorgelegten Befunde über die Ketopentose-Ausscheidung im Harn nach Belastung mit D-Xylose oder Xylit stehen in krasssem Widerspruch zu dem, was man aus der Umsatzgeschwindigkeit der beiden Substanzen erwarten würde. Da beide Stoffe von D-Xylulose-5-phosphat ab über den gleichen Weg, den Pentosephosphat-shunt, abgebaut werden, ist anzunehmen, daß diejenige Substanz, deren Abbau am schnellsten eingeleitet wird, am meisten zur Ausscheidung von Zwischenprodukten Anlaß gibt, wenn im Verlaufe des Abbaus geschwindigkeitsbegrenzende Schritte vorliegen. Nun wird aber Xylose langsamer und unvollständiger umgesetzt als Xylit. Bei den hier geschilderten Versuchen ist das in verschärftem Maße der Fall, weil Xylose, oral beigebracht, bekanntlich langsam resorbiert wird (38, 39), während das intravenös injizierte Xylit viel rascher und vollständiger umgesetzt wird. Trotzdem fand sich nach Xylit-Belastung nur gelegentlich angedeutet ein leichter Anstieg der Ketopentose-Ausscheidung, während nach Xylose-Belastung regelmäßig eine erheblich gesteigerte Ausscheidung an D-Xylulose zu finden war.

Wie kann diese Erscheinung erklärt werden? Zunächst darf angenommen werden, daß beim Xylitumsatz die einleitende Reaktion, also die Dehydrierung zu D-Xylulose, den gesamten Umsatz limitiert. Unter dieser Bedingung kann es nie zum Anstau von Zwischenprodukten kommen!

Schwieriger ist es jedoch, die Verhältnisse bei Xylose-Belastung zu erklären. Mit Sicherheit ist die einleitende Reaktion langsamer als die Dehydrierung des Xylit. Unter den hier geschilderten Versuchsbedingungen ist dieser Unterschied noch größer infolge der unterschiedlichen Applikationsart. Es ist also nicht einzusehen, warum sich beim langsamen Xylose-Abbau eben diejenigen Zwischenprodukte anhäufen sollen, die sich bei dem viel rascher ablaufenden Xylit-Abbau nicht anhäufen.

Das ist nur zu erklären, wenn man annimmt, daß Xylose eine Reaktion des Abbaufweges, nämlich des Pentosephosphat-shunts, hemmt. Bei einer Hemmung einer Reaktion in einer Stoffwechselkette stauen sich zunächst immer die unmittelbar davorliegenden Substrate an. Da bei der Xylose-Belastung Ribulose und D-Xylulose vermehrt ausgeschieden werden, muß man annehmen, daß Xylose den Pentose-phosphat-shunt auf der Stufe der Transketolase-Reaktion hemmt. Unter derartigen Bedingungen muß es zu einem Anstau von Ribulose-5-phosphat und D-Xylulose-5-phosphat kommen. Wenn die intracellulären Konzentrationen an diesen Substanzen ansteigen, dann können Phosphatase-Aktivitäten wirksam werden, die sonst bei der geringen stationären Konzentration

nicht ins Gewicht fallen. Freigesetzte D-Xylulose könnte dann die Zellmembran passieren, um in den Blutstrom und damit in den Harn zu gelangen.

Durch eine Hemmung der Transketolase durch Xylose ließen sich also die beobachteten Erscheinungen der Ketopentosurie zwanglos erklären. Ob diese Erklärung zutrifft, soll im nächsten Abschnitt untersucht werden.

B. TRANSKETOLASE-HEMMUNG DURCH D-XYLOSE

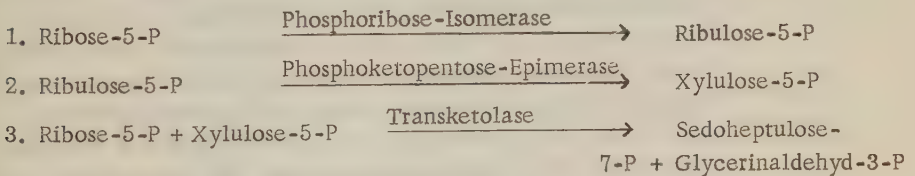
1. Methodik

Durch Verdünnung von Rattenblut mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1 : 10 wurden die Hämolysate hergestellt.

Rattenleberhomogenate wurden 10%ig (bezogen auf das Feuchtgewicht) in 0,9% KCl mit einem Potter-Elvehjem - Homogenisator mit Teflon - Stempel hergestellt und zur Entfernung von Bindegewebe und gröberen Bestandteilen durch einen Perlonstrumpf filtriert.

Bestimmung der Transketolase-Aktivität

Die Transketolase-Aktivität wurde nach der von BRUNS und Mitar. (40) verwandten Methode bestimmt, wobei nicht beide Substrate der Transketolase-Reaktion eingesetzt wurden, sondern nur Ribose-5-phosphat, aus dem durch zwei vorgeschaltete Reaktionen das zweite Substrat entsteht:



Da in Hämolysaten wie in Leberhomogenaten die beiden vorgeschalteten Reaktionen - Isomerase und Epimerase - etwa 1000-fach schneller ablaufen als die Transketolase-Reaktion, ergibt die Geschwindigkeit der Sedoheptulose-7-phosphat-Bildung die effektive Aktivität der Transketolase.

Das Natriumsalz von Ribose-5-phosphat wurde aus dem Bariumsalz gewonnen, und zwar durch Umsetzen mit einer äquivalenten Menge Natriumsulfat und Abzentrifugieren des Bariumsulfats. Das Bariumsalz wurde von der Firma Boehringer/Mannheim bezogen.

Ansätze: Die Ansätze zur Bestimmung der Transketolase-Aktivität enthalten 0,5 ml 1 : 10 verdünntes Hämolystat bzw. 0,04 ml 10%iges Rattenleber-Homogenat; 0,5 ml 0,1 m TRIS-Puffer pH 7,6; 0,5 ml 0,02 m Ribose-5-phosphat-Na-Salz, gegebenenfalls 0,5 ml 0,02 m D-Xylose + Aqua dest. ad 2,0 ml. Die Ansätze wurden 30 min. bei 37° inkubiert und dann durch Zusatz von 1 ml 10%iger Essigsäure abgestoppt. Entsprechende Blindversuche wurden zur Zeit 0 enteiweißt. Nach Abzentrifugieren des Proteinniederschlages wurde 1 ml des Überstandes zur Bestimmung des entstandenen Sedoheptulose-7-phosphats entnommen. Die Transketolase-Reakt. verläuft unter diesen Bedingungen über 30 min linear.

Die Bestimmung von Sedoheptulose-7-phosphat erfolgte nach der Methode von BRUNS u. Mitarb. (40), einer modifizierten Orcin-Reaktion.

Reagentien: Konz. HCl

FeCl₃-Lösung: 13 mg FeCl₃ ad 100 ml 2n HCl

Orcin-Lösung: 6% in Äthanol

Äthanol 95%

Ausführung: Zu 1,0 ml TCE-Filtrat wird 2,0 ml konz. HCl hinzugegeben und dann das Gemisch 80 min in kleinen Glasröhrchen im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlung werden die Röhrchen mit 0,2 ml FeCl₃-Lösung und 0,075 ml Orcin-Lösung versetzt, gründlich durchmischt und nochmals genau 3 min im Wasserbad erhitzt. Dabei erscheint eine bläulich-grüne Farbe (max 590 m μ). Versetzt man das Reaktionsgemisch mit einem gleichen Volumen Äthanol, so schlägt die Farbe nach blau um (max 625), gleichzeitig wird die Farbintensität erheblich gesteigert. Die Farblösung bleibt 4 Std. bei Zimmertemperatur stehen, dann erfolgt die Messung gegen den Blindwert bei 625 m μ . Die Farbintensität bleibt für 24 Std. konstant. Triosen, Pentosen, Hexosen und ihre Phosphorsäureester stören die Reaktion praktisch nicht.

Als Standard wurde Sedoheptulose (Serva Heidelberg) verwandt. Die Enzymaktivitäten sind in Molen Sedoheptulose-7-phosphat angegeben.

Musteransatz:

Ansatz	1	2	3	4	5	6
Hämolysat 1 : 10	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,1 m TRIS pH 7,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,02 m R-5-P	0,5	0,25	0,5	0,25	0,25	0,5
0,02 m Xylose	-	-	0,5	0,5	0,25	-
3,5% Xylit	-	-	-	-	-	0,5
H ₂ O	0,5	0,75	-	0,25	0,25	-

2. Ergebnisse

Die D-Xylose hemmt in einer zu Ribose-5-phosphat äquimolaren Konzentration die Transketolase-Aktivität in Rattenblut-Hämolysaten (Tabelle 4) und in Rattenleberhomogenaten (Tabelle 5) zu 20 - 50 Prozent (Durchschnitt ca. 40 Prozent).

Tabelle 4: Hemmung der Transketolase-Aktivität in Rattenblut-Hämolysaten. Bestimmung s. Methodik.

Versuch Nr.	Transketolase-Aktivität		
	μ -Mole Sedoheptulose-7-phosphat/Std.		
	ohne Xylose	mit Xylose	Hemmung (%)
1	1,22	0,64	48
2	1,40	1,05	25
3	1,74	1,34	23
4	1,26	0,64	50
5	1,30	0,64	51
6	0,58	0,28	51
7	1,16	0,58	50
8	1,28	0,74	42

Zu entsprechenden Ergebnissen kommt man auch bei Versuchen mit Rattenleber-Homogenat (s. Tabelle 5).

Tabelle 5: Hemmung der Transketolase-Aktivität in Rattenleber-Homogenaten. Methodik s. o.

Versuch Nr.	Transketolase-Aktivität μ -Mole Sedoheptulose-7-phosphat pro Stunde		
	ohne Xylose	mit Xylose	Hemmung (%)
1	2,36	1,14	31
2	1,22	0,94	23
3	1,34	0,71	47
4	1,64	1,20	27
5	1,60	1,12	30
6	1,38	1,06	23
7	1,82	1,02	44
8	2,30	1,68	27
9	1,84	1,02	45
10	1,68	1,27	25
11	1,21	0,97	20
12	0,87	0,51	41
13	0,96	0,66	31

Es steht also eindeutig fest, daß Transketolase durch D-Xylose gehemmt wird. Für die Auswirkung einer derartigen Hemmung im Organismus ist es sehr wichtig zu wissen, ob sie vom kompetitiven oder nicht kompetitiven Typ ist. Daraus läßt sich insbesondere das Ausmaß der Hemmung in Abhängigkeit vom Verhältnis

Substratkonzentration : Hemmstoffkonzentration

beurteilen. Es wurde deshalb der Hemmtyp nach dem Verfahren von LINEWEAVER und BURK (41) analysiert, indem bei gleichbleibender Hemmstoffkonzentration die Substratkonzentration (hier Ribose-5-phosphat) variiert wurde.

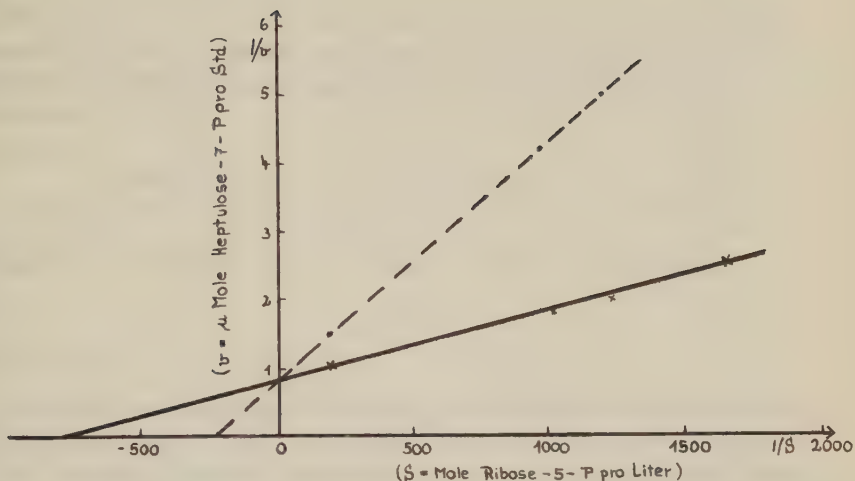


Abb.3 Kompetitive Hemmung der Transketolase durch D-Xylose. Bestimmung der Transketolase-Aktivität wie unter Methodik beschrieben. Ansätze s.o., die mit ausgezogener Linie bezeichnete Kurve waren Ansätze ohne Xylose, bei der gestrichelten Kurve handelt es sich um Ansätze, die konstant $5 \cdot 10^{-3}$ m Xylose enthielten.



Beispiel für einen derartigen Ansatz:

Ansatz:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Homogenat	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
TRIS pH 7,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
R-5-P 0,02 m	0,5	0,5	1,0	1,0	0,8	0,8	0,6	0,6	0,4	0,4
Xylos. 0,02 m	-	0,5	-	0,5	-	0,5	-	0,5	-	0,5
H ₂ O	0,96	0,46	0,5	-	0,7	0,2	0,9	0,4	1,1	0,6

Das Ergebnis eines solchen Versuchs mit Leberhomogenat zeigt Abb. 3.

3. Diskussion

Diese nachgewiesene kompetitive Hemmung der Transketolase durch D-Xylose erklärt die gesteigerte Ketopentosen-Ausscheidung nach Xylose-Behandlung, wenn die Bedingungen der hier beschriebenen in vitro-Versuche sich mit denen der in vivo-Versuche vergleichen lassen. Daß dies der Fall ist, zeigt folgende Überlegung: Die Inhibitor-Konstante K_i für D-Xylose liegt in der Größenordnung von $10^{-3}m$, wie sich aus den in Abb. 3 dargestellten Versuchen errechnen läßt. Diese Konstante gibt die zu 50%iger Hemmung erforderliche Hemmstoffkonzentration. Gewebespiegel an D-Xylose in der Größenordnung von $10^{-3}m$ (15mg-%) sind nach Belastung mit 20 g Xylose zumindest vorübergehend durchaus wahrscheinlich. Der Blutspiegel an Xylose erreicht 1 Std. nach Belastung mit 20 g Werte von im Mittel 40 - 50 mg-% (also etwa $3 \cdot 10^{-3}m$ (42) und steigt in Einzelfällen noch wesentlich höher an.

Diese Hemmung führt dann über den auf Seite 12 diskutierten Mechanismus zur Ausscheidung von Ribulose und D-Xylulose.

Trotz des etwa 100-fachen Anstiegs der Ketopentosen-Ausscheidung ist die ausgeschiedene Menge absolut gesehen nicht groß (50-300 mg Ketopentosen in 5 Std. nach der Belastung). Eine gefährliche Störung des Stoffwechsels ist also nicht zu erwarten. Trotzdem rechnet auch diese Wirkung der Xylose im Verein mit anderen Eigenschaften wie zum Beispiel der schlechten Ausnutzung im Organismus und der Insulin-Abhängigkeit zu den Gründen, die D-Xylose als Ersatzzucker für Diabetiker für nicht geeignet erscheinen zu lassen.

Demgegenüber weist Xylit eindeutige Vorzüge auf: Er ist gut verträglich, wird schnell umgesetzt und verursacht keine Erhöhung des Blutzuckerspiegels (44), Eigenschaften, die ihn als Zuckerersatz wesentlich geeigneter erscheinen lassen als Xylose.

Ob diese gute Verwertbarkeit ungeachtet einer relativ starken Leberschädigung erhalten bleibt (bekanntlich verläuft in der Leber der Hauptteil des Xylitstoffwechsels), soll im folgenden Abschnitt in einem Versuch mit lebergeschädigten Ratten untersucht werden. Bei einer Beeinträchtigung des Xylit-Umsatzes könnte sich eine zusätzliche Möglichkeit für die Leberfunktionsdiagnostik bieten!

C. VERWERTUNG VON XYLIT BEI EXPERIMENTELLER LEBERCIRRHOSE

1. Methodik

Ratten: Die in dem Versuch verwendeten Sprague-Dawley-Ratten wurden im Stoffwechselkäfig gehalten und mit normalem Futter versorgt. Bei Versuchsreihe I (s. Tabelle 6) erhielten stoffwechselgesunde Ratten 0,5 ml 25% Xylit i. v. injiziert, entsprechend 125 mg Xylit. Für Versuchsreihe Nr. II wurden lebergeschädigte Ratten benötigt, und zwar wurde diese Lebercirrhose experimentell erzeugt: Gesunde Ratten erhielten über einen Zeitraum von 120 Tagen täglich 1 ml 1% Thioacetamid i. p. injiziert. Vor Beginn vorgenommene Probesektionen bewiesen, daß eine hochgradige Lebercirrhose eingetreten war.

Aufarbeitung der Harnproben: Der gesamte aufgefangene Harn wurde mit dem 3-fachen Volumen eiskalten Acetons versetzt und bei 0° über Nacht aufbewahrt. Nach dem Abzentrifugieren der in der Kälte ausgefallenen Salze wurde das Aceton aus dem Überstand im Vakuum bei 40° abdestilliert. 1 ml des so vorbereiteten Harnes wurde nun zur Entionisierung über die Säulen geschickt (Dowex 1 x 8 u. Dowex 50). Die mit der Waschflüssigkeit vereinten Eluate wurden auf 10 ml aufgefüllt. Die Bestimmung des Xylits erfolgte auf enzymatischem Wege (43).

2. Ergebnisse

Versuch I = normale Ratten

Die Xylitausscheidung in 12 Std. nach Belastung mit 125 mg bei normalen Ratten zeigen die in Tabelle I aufgeführten Daten von 35 Versuchstieren:

Tabelle I

Ausscheidung von Xylit im Harn 12 Std. nach Belastung mit 125 mg Xylit
i. v. injiziert.

Nr.	Gewicht (g)	Harnmenge (ml)	Xylit-Ausscheidung(mg)
1	220	7,6	19,76
2	240	4,0	8,20
3	260	7,5	19,88
4	220	6,5	18,65
5	180	4,5	10,08
6	180	2,3	16,44
7	185	6,7	13,74
8	185	7,0	15,05
9	180	9,5	12,35
10	190	5,0	11,50
11	240	14,5	22,80
12	220	6,0	11,22
13	180	5,5	15,68
14	215	6,5	17,53
15	230	4,2	10,92
16	180	5,4	11,88
17	220	7,2	18,20
18	220	5,0	17,25
19	215	10,1	16,54
20	180	5,2	22,10
21	225	15,5	27,50
22	210	10,5	18,76
23	220	4,0	17,16
24	220	5,6	12,42
25	210	7,9	18,92
26	180	4,9	11,52
27	180	5,5	18,98
28	180	5,9	12,10
29	170	3,0	8,40
30	205	5,1	19,22
31	185	4,3	10,75
32	180	5,0	11,98
33	220	6,5	23,40
34	210	3,5	16,98
35	210	3,5	16,98

Die Ausrechnung der Durchschnittswerte zeigte folgendes Ergebnis:

$$565,60 : 35 = 16,16$$

$$\text{Standardabweichung } S = \sqrt{\frac{\sum \Delta^2}{(n - 1)}} = 4,37$$

$$\approx \underline{\underline{27\% \text{ vom Durchschnitt}}}$$

Bei Versuchsreihe Nr. II wurde bei gleichen Versuchsbedingungen mit cirrhotischen Ratten experimentiert, um zu untersuchen, wie die Xylit-Verwertung bei starker Leberschädigung funktioniert. Die Befunde sind in Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II

Ausscheidung von Xylit im Harn 12 Std. nach Belastung mit 125 mg Xylit, i. v. injiziert.

Nr.	Gewicht (g)	Harnmenge (ml)	Xylit-Ausscheidung (mg)
1	255	2,8	10,44
2	250	6,0	9,54
3	230	4,2	15,32
4	220	12,2	24,40
5	250	6,2	9,86
6	225	9,8	13,72
7	260	3,6	9,40
8	235	2,4	8,23
9	240	11,3	16,58
10	250	18,8	16,54
11	230	4,4	9,81
12	240	5,1	14,08
13	225	12,2	24,16
14	220	3,3	14,22
15	185	3,0	9,62
16	240	3,8	14,10
17	205	1,7	10,15
18	210	5,8	11,04
19	180	3,2	13,60
20	200	22,2	26,64
21	180	8,0	13,20

Fortsetzung Tabelle II:

Nr.	Gewicht (g)	Harnmenge (ml)	Xylit-Ausscheidung(mg)
22	220	8,3	14,94
23	210	7,9	16,59
24	190	7,3	14,97
25	220	6,0	16,50
26	220	6,5	16,25
27	180	7,8	15,21
28	180	11,0	26,16
29	210	10,0	23,00
30	200	11,1	25,53
31	180	10,5	24,15
32	190	6,5	13,00
33	220	2,6	8,97
34	190	4,0	11,40
35	180	4,2	6,50
36	180	14,9	30,55

Die Durchschnittsausscheidung erreichte bei den cirrhotischen Tieren einen Wert von $568,37 : 36 = 15,78$

$$S = \sqrt{\frac{\sum \Delta^2}{(n - 1)}} = 5,86 \approx \underline{37\% \text{ vom Durchschnitt}}$$

Der Vergleich der Durchschnittswerte für die Xylitausscheidung zeigt, daß kein Unterschied zwischen gesunden und lebercirrhotischen Ratten besteht. Als Ergebnis dieser Versuchsreihe bleibt festzustellen, daß auch eine relativ schwere Leberschädigung das Ausmaß des Xylitabbaus nicht beeinträchtigt. Ein empfindliches Maß für die Geschwindigkeit des Xylitabbaus ist die 12-Std. -Ausscheidung allerdings nicht.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Die Ausscheidung der Ketopentosen in normalen 12-Std.-Harn liegt in der Größenordnung von 1 - 7 mg.

Nach intravenöser Belastung mit 20 g Xylit wird bei 5 von 9 Fällen ein geringfügiger Anstieg der Ketopentose-Ausscheidung gefunden.

Nach oraler Belastung mit 20 g D-Xylose steigt die Ketopentose-Ausscheidung auf etwa das 100-fache der Norm an. Es handelt sich um D-Xylulose und Ribulose, was auf eine Hemmung des Pentosephosphat-shunts durch D-Xylose auf der Stufe der Transketolase hinweist, die in Hämolysaten und Leberhomogenaten auch nachgewiesen wird. Xylose hemmt die Transketolase in kompetitiver Weise.

Die Inhibitor-Konstante für D-Xylose liegt in der gleichen Größenordnung wie die Xylose-Blutspiegel nach oraler Belastung. Es wird daher angenommen, daß die Ursache für die gesteigerte Ketopentose-Ausscheidung nach Xylose-Belastung in der Transketolase-Hemmung zu suchen ist.

Xylit wird dagegen gut verwertet, auch eine relativ schwere Leberschädigung beeinträchtigt nicht das Ausmaß des Xylit-Abbaus. Aus diesem Grund ist die Xylit-Ausscheidung nach Belastungen für die Leberfunktionsdiagnostik nicht zu verwerten.

V. LITERATURVERZEICHNIS

1. HORECKER, B. L., P. Z. SMYRNIOTIS: The enzymatic production of ribose-5-phosphate from 6-phosphogluconate.
Arch. Biochem. 29, 232 (1950)
2. HORECKER, B. L., P. Z. SMYRNIOTIS, J. E. SEEGMILLER: The enzymatic conversion of 6-phosphogluconate to ribulose-5-phosphate and ribose-5-phosphate.
J. Biol. Chem. 193, 383 (1951)
3. SEEGMILLER, J. E., B. L. HORECKER: Metabolism of 6-phosphogluconic acid in liver and bone marrow.
J. Biol. Chem., Baltimore, 194, 261 (1952)
4. HOLLMANN, S., O. TOUSTER: An enzymatic pathway from L-xylulose to D-xylulose.
J. Amer. Chem. Soc. 78, 3544 (1956)
5. AGRANOFF, B. W., R. O. BRADY: Purification and properties of calf liver ribokinase.
J. Biol. Chem. 219, 221 (1956)
6. SEGAL, S., J. FOLEY: The metabolism of D-ribose in man.
J. Clin. Invest. 37, 719 (1958)
7. SEGAL, S., J. B. FOLEY: The metabolism of C¹⁴ labeled pentose in man.
J. Clin. Invest. 38, 407 (1959)
8. HIATT, H. H.: Studies of ribose metabolism. III. The pathway of ribose carbon conversion to glucose in man.
J. Clin. Invest. 37, 651 (1958)
9. VAN HEYINGEN, R.: Metabolism of xylose by the lens.
Biochem. J. 73, 197 (1959)
10. BÄSSLER, K. H.: Biochemie und Stoffwechsel von Xylit.
Dtsch. Lebensmitt.-Rundschau 61, 17 (1965)
11. HIATT, H. H.: Glucogen formation via the pentose phosphate pathway in mice in vivo.
J. Biol. Chem. 224, 851 (1957)
12. ROE, J. H. and E. W. RICE: A photometric method for the determination of free pentoses in animal tissues.
J. Biol. Chem. 173, 507 (1948)
13. DISCHE, Z. and E. BÖRENFREUND: A new spectrophotometric method for the detection and determination of keto sugars and trioses.
J. Biol. Chem. 192, 583 (1951)

14. LAMPEN, J. O.: Formation of ribose phosphate from xylose by extracts of *lactobacillus pentosus*.
J. Biol. Chem. 204, 999 (1953)
15. MITSUHASHI, S. and J. O. LAMPEN: Conversion of D-xylose to D-xylulose in extracts of *lactobacillus pentosus*.
J. Biol. Chem. 204, 1011 (1953)
16. HOLLMANN, S.: Nicht glykolytische Stoffwechselwege der Glucose.
Thieme-Verlag, Stuttgart 1961
17. KLEVSTRAND, R. and A. NORDAL: A spraying reagent for paper chromatograms which is apparently specific for ketopentoses.
Acta Chem. Scand. 4, 1320 (1950)
18. BRYSON, J. L. and T. J. MITCHELL: Improved spraying reagents for the detection of sugars on paper chromatograms.
Nature 167, 864 (1951)
19. BORENFREUND, E. and Z. DISCHE: A new spray for spotting of sugars on paper chromatograms.
Arch. Biochem. 67, 239 (1957)
20. HEYROVSKY, A.: A new detection method in paper chromatography of sugars.
Biochem. Biophys. Acta 21, 180 (1956)
21. KHYM, J. X. and L. P. ZILL: The separation of sugars by ion exchange.
J. Amer. Chem. Soc. 74, 2090 (1952)
22. ZILL, L. P., J. X. KHYM and G. M. CHENIAE: Further studies on the separation of the borate complexes of sugars and related compounds by ion exchange chromatography.
J. Amer. Chem. Soc. 75, 1339 (1953)
23. BAUMGARTEN, F.: Papierchromatographische Untersuchungen über die Zusammensetzung des Blut- und Harnzuckers von Gesunden und Diabetikern.
Dtsch. Z. Verdau.-Stoffwechselkrkh. 15, 198 (1955)
24. WHITE and W. C. HESS: Paper chromatic detection of sugars in normal and dystrophic human urines.
Arch. Biochem. 64, 57 (1956)
25. MATTHIAS, W.: Über eine einfache Methode für papierchromatographische Untersuchungen (Keilstreifenverfahren).
Naturwissenschaften 43, 351 (1956)
26. BICKEL, H. u. F. SOUCHON: Die Papierchromatographie in der Kinderheilkunde.
Beihefte z. Arch. f. Kinderhkl., Heft 31

27. LIESENDAHL, H. und K. SCHREIER: Über eine spezifische Methode zum Nachweis von Ketozuckern im Papierchromatogramm.
Klin. Wschr. 33, 590 (1955)
28. HALLER, H.: Zur Melliturie. Eine papierchromatographische Studie.
Med. Welt 4, 206 (1965)
29. HALLER, H.: Ein Beitrag zur Methodik der Papierchromatographie der Harnzucker.
Ärztl. Forschung 16, I/350 (1962)
30. FUTTERMAN, S. and J. H. ROE: The identification of ribulose and L-xylulose in human and rat urine.
J. Biol. Chem. 215, 257 (1955)
31. TOUSTER, O., R. M. HUTCHESON and L. RICE: The influence of D-glucuronolactone on the excretion of L-xylulose by humans and guinea pigs.
J. Biol. Chem. 215, 677 (1955)
32. GRAFE, E. und H. REINWEIN: Über die Verwertung von Pentosen (Xylose) beim gesunden und diabetischen Menschen.
Dtsch. Arch. klin. Med. 173, 646 (1955)
33. McCORMICK, D. B. and O. TOUSTER: The conversion in vivo of xylitol to glycogen via the pentose phosphate pathway.
J. Biol. Chem. 229, 451 (1957)
34. WYNGAARDEN, J. B., S. SEGAL and J. B. FOLEY: Physiological disposition and metabolic fate of infused pentoses in man.
J. Clin. Invest. 36, 1395 (1957)
35. HICKMAN, J. and ASHWELL: A sensitive and stereospecific enzymatic assay for xylulose.
J. Biol. Chem. 234, 758 (1959)
36. BÄSSLER, K. H., W. PRELLWITZ, V. UNBEHAUN u. K. LANG: Xylitstoffwechsel beim Menschen. Zur Frage der Eignung von Xylit als Zuckerersatz beim Menschen.
Klin. Wschr. 40, 791 (1962)
37. PRELLWITZ, W. u. K. H. BÄSSLER: Die Verträglichkeit von Xylit beim Diabetiker.
Klin. Wschr. 41, 196 (1963)
38. MILLER, M. M. and H. B. LEWIS: Pentose metabolism. I. The rate of absorption of D-xylose and the formation of glycogen in the organism of the white rat after oral administration of D-xylose.
J. Biol. Chem. 98, 133 (1932)

39. CORI, C. F.: The fate of sugar in the animal body. I. The rate of absorption of hexoses and pentoses from the intestinal tract.
J. Biol. Chem. 66, 691 (1925)
40. BRUNS, F. H., E. DÜNNWALD u. E. NOLTMANN: Über den Stoffwechsel von Ribose-5-phosphat in Hämolysaten. III. Quantitative Bestimmung von Sedoheptulose-7-phosphat und einige Eigenschaften der Transketolase der Erythrozyten und des Blutserums.
Biochem. Z. 330, 497 (1958)
41. LINEWAEVER, H. and D. BURK: The determination of enzyme dissociation constants.
J. Amer. Chem. Soc. 56, 658 (1934)
42. DRUBE, Hans-Christian: Der Xylosebelastungstest im Alter.
Klin. Wschr. 40, 518 (1962)
43. BÄSSLER, K. H., V. UNBEHAUN u. W. PRELLWITZ: Enzymatische Bestimmung von Xylit in biologischem Material.
Biochem. Z. 336, 35 (1962)

Herrn Professor Dr. med. K. H. Bässler möchte
ich für die Überlassung des Themas sowie die all-
zeit gewährte Unterstützung herzlich danken.

LEBENS LAUF

Am 28. 7. 1940 wurde ich in Braunschweig als Sohn des Schachtmeisters Richard Stechert und seiner Ehefrau Emmy, geb. Mikoleizik, geboren.

Von Ostern 1947 bis Ostern 1951 besuchte ich die Werla-Schule in Schladen am Harz, dann trat ich in die Staatliche Mittelschule in Wolfenbüttel ein. Am 15. 4. 1955 wechselte ich auf das Mathematisch-Naturwissenschaftliche Gymnasium über, wo ich im Frühjahr 1960 das Abitur ablegte. Im SS desselben Jahres ergriff ich an der Johannes Gutenberg-Universität das Studium der Medizin, in dessen Verlauf ich im April 1963 die ärztliche Vorprüfung bestand.

